

果物、野菜、ジュース中の 30 種類の ペルフルオロアルキル化合物および ポリフルオロアルキル化合物の測定

Agilent Captiva EMR PFAS Food I
パススルークリーンアップと LC/MS/MS 検出を使用

著者

Limian Zhao and
Matthew Giardina
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、果物、野菜、ジュース中のペルフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）の多成分残留分析メソッドの開発とバリデーションについて説明します。このメソッドでは、QuEChERS 抽出の後に、Agilent Captiva EMR PFAS Food I カートリッジによる拡張マトリックス除去（EMR）ミックスモードパススルークリーンアップと、LC/MS/MS 検出を使用しています。このメソッドの特長は、適切な標準検量線を用いた簡素で効率的なサンプル前処理、高感度な LC/MS/MS 検出、信頼性の高い定量です。このメソッドが、農産物とジュースに含まれる 4 種類の主要な PFAS ターゲット（ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）、ペルフルオロオクタン酸（PFOA）、ペルフルオロノナン酸（PFNA）、ペルフルオロヘキサンスルホン酸（PFHxS））とその他の 26 種類の PFAS ターゲットに必要な定量下限（LOQ）、回収率、再現性を満たしていることを証明しました。

はじめに

ここ数年で、食品中の PFAS 残留物の測定に対する懸念は高まっており、より多くの注目を集めるようになってきました。2023 年 4 月に、欧州委員会は鶏卵、魚、魚介類、肉、内臓肉に含まれる 4 種類の主要な PFAS 化合物 (PFOS、PFOA、PFNA、PFHxS) に関する規制を施行しました。¹ 2023 年 11 月には、農産物、飲料、乳製品、鶏卵、魚介類、肉製品、飼料に含まれる 30 種類の PFAS の分析について、AOAC SMPR 2023.003 をリリースしました。²

Agilent Captiva EMR PFAS Food カートリッジは、食品中の PFAS の分析専用開発および最適化されています。多種多様な食品マトリックスに対応するため、2 種類のカートリッジ (I および II) が設計されました。本研究では、新鮮な果物、野菜、ジュースに含まれる 30 種類の PFAS を測定するための完全なワークフローを開発してバリデーションすることを目的としました。このワークフローでは、QuEChERS 抽出の後に、Captiva EMR PFAS Food I カートリッジによる EMR ミックスモードパススルークリーンアップと Agilent 6470B トリプル四重極 LC/MS による検出を使用します。この研究では、6 種類の代表的な食品マトリックス (ブドウ、レタス、マッシュルーム、ニンジン、トマト、オレンジジュース) を使用しました。

実験方法

材料および試薬

非標識および同位体標識された PFAS 認証標準溶液は、Wellington Laboratories (ゲルフ、オンタリオ州、カナダ) から購入しました。メタノール (MeOH)、アセトニトリル (ACN)、イソプロピルアルコール (IPA) は、VWR (ラドナー、ペンシルベニア州、米国) から購入しました。酢酸と酢酸アンモニウムは、MilliporeSigma (パーリントン、マサチューセッツ州、米国) から購入しました。

溶液および標準

認定済み標準を MeOH で希釈して、3 種類の非標識 PFAS 原液を前処理しました。最終濃度は 2、20、200 ng/mL です。ただし、PFBA の濃度は 10 倍、PFPeA の濃度は 5 倍高くなるように調整しました。これらは、マトリックスのプレスパイク品質管理 (QC) サンプルにも使用しました。認証標準を MeOH で希釈して、濃度が 100 ng/mL の同位体標識された PFAS 溶液を前処理し、内部標準 (ISTD) として使用しました。すべての標準を 4 °C で保管し、2 週間以内に使用しました。

非標識 PFAS スパイク溶液と ISTD スパイク溶液を使用して、非標識 PFAS ターゲットの添加用標準の濃度が 10、20、50、100、200、500、1,000、2,000、5,000 ng/L、ISTD の濃度が 1,000 ng/L になるように、MeOH で前処理しました。

1 % 酢酸 (AA) 抽出溶媒を含む ACN は、10 mL の氷酢酸を 990 mL の ACN に加えて前処理し、室温で保存しました。LC 移動相 A は 5 mM の NH₄OAc 水溶液、移動相 B は MeOH です。

実験装置および材料

この研究では、1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)、1290 Infinity II マルチサンブラ (G7167B)、1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116A) で構成される Agilent 1290 Infinity II LC システムを使用しました。この LC システムを、Agilent 6470B LC/TQ システムに連結しました。データ取り込みには、MassHunter Workstation ソフトウェアバージョン 10.1 を使用しました。データ解析には、MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェアバージョン 10.0 を使用しました。

サンプル前処理に使用したその他の機器は以下のとおりです。

- Centra CL3R 遠心管 (Thermo IEC、マサチューセッツ州、米国)
- ジェノグラインダー (メアチエン、ニュージャージー州、米国)
- Multi Reax 試験管シェーカー (Heidolph、シュヴァーバハ、ドイツ)
- ピペットとリピーター (Eppendorf、ニューヨーク州、米国)
- Agilent 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 48 本用 (PPM-48、部品番号 5191-4101)
- CentriVap および CentriVap コールドトラップ (Labconco、ミズーリ州、米国)
- 超音波洗浄器 (VWR、ペンシルバニア州、米国)

1290 Infinity II LC システムの変更には、Agilent InfinityLab PFC ディレイカラム、4.6 × 30 mm (部品番号 5062-8100) を含む Agilent InfinityLab PFC フリー HPLC 変換キット (部品番号 5004-0006) を使用しました。クロマトグラフィーによる分離には、Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 カラム、95 Å、2.1 × 100 mm、1.8 μm (部品番号 959758-902) と Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 カラム、2.1 mm、1.8 μm、圧力上限 120 MPa、UHPLC ガード (部品番号 821725-901) を使用しました。

この他に、次のようなアジレントの消耗品を使用しました。

- Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出キット、EN 15662 メソッド、バッファ塩、セラミックホモジナイザ (部品番号 5982-5650CH)
- Captiva EMR PFAS Food I カートリッジ、6 mL カートリッジ、340 mg (部品番号 5610-2230)
- ポリプロピレン (PP) スナップキャップおよびバイアル、1 mL (部品番号 5182-0567 および 5182-0542)
- PP スクリューキャップ型バイアルおよびキャップ、2 mL (部品番号 5191-8150 および 5191-8151)
- チューブおよびキャップ、50 mL、50 個 (部品番号 5610-2049)
- チューブおよびキャップ、15 mL、100 個 (部品番号 5610-2039)

本研究で使用した消耗品はすべて、許容可能な PFAS 清浄度についてテストおよび検証済みです。

LC/MS/MS 機器の条件

LC バイナリポンプの条件を表 1 に、マルチサンブラプログラムを表 2 に示します。カラム温度は 55 ± 0.8 °C に設定しました。質量分析計データはネガティブイオンモードで、166 V の一定のフラグメンタ設定で取り込みました。ESI イオン源の設定は乾燥ガスが 150 °C、18 L/min、シーイングガスが 390 °C、12 L/min、ネプライザガスが 15 psi、キャピラリー電圧が 2,500 V、ノズル電圧が 0 V です。6470B LC/TQ dMRM の取り込み設定は表 3 のとおりです。

表 1. LC/MS/MS 用の LC ポンプ条件

パラメータ	設定			
移動相 A	5 mM NH ₄ OAc 水溶液			
移動相 B	MeOH			
グラジエント	時間 (分)	A%	B%	流量 (mL/min)
	0.00	98.00	2.00	0.400
	2.00	98.00	2.00	0.400
	2.50	45.00	55.00	0.400
	6.50	30.00	70.00	0.400
	8.00	20.00	80.00	0.460
	14.20	0.00	100.00	0.460
	17.00	0.00	100.00	0.400
17.10	98.00	2.00	-	
ポストタイム	3.0 分			

表 2. LC/MS/MS 用の LC マルチサンブラプログラム

パラメータ	設定				
注入プログラム	<ul style="list-style-type: none"> - 水 10.00 µL を吸引 - サンプル 20.00 µL を吸引 - ニードルを洗浄 - 水 50.00 µL を吸引 - 空気から 10.00 µL を 5 回混合 - 注入 				
マルチウォッシュ	ステップ	溶媒	時間 (秒)	シートバックフラッシュ	ニードル洗浄
	1	IPA	10	有効	有効
	2	ACN	10	有効	有効
	3	水	10	有効	有効
	コンディショニング開始		水 NA	有効	有効

表 3. LC/MS/MS 取り込み設定

化合物	リテンションタイム (分)	プリカーサイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)	フラグメンタ (V)	コリジョンエネルギー (V)	コリジョンセル加速電圧 (V)
PFBA	4.8	213	169	72	8	2
PFPeA	5.3	263	219	72	4	2
PFHxA	5.9	313	269 119	72	8 24	2
PFPpA	6.7	363	319 169	72	8 16	2
PFOA	7.6	413	369 219	72	8 16	2
PFNA	8.5	463	419 219 169	72	8 16 20	2

化合物	リテンションタイム (分)	プリカーサイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)	フラグメンタ (V)	コリジョンエネルギー (V)	コリジョンセル加速電圧 (V)
PFDA	9.3	513	469 269 219	72	12 16 20	2
PFPUnDA	9.9	563	519 319 269	100	12 20 20	2
PFPDoDA	10.3	613	569 319 269	100	8 20 24	2
PFPTrDA	10.8	663	619 319 169	100	12 20 32	2
PFPTeDA	11.2	713	669 219 169	100	12 28 32	2
PFBS	5.4	299	99 80	154	34 36	2
PFPpES	6.0	349	99 80	144	40 44	2
PFPHxS	6.8	399	99 80	156	40 56	2
PFPHpS	7.6	449	99 80	148	42 50	2
PFOS	8.5	499	99 80	148	50 54	2
PFNS	9.3	549	99 80	148	52 56	2
PFDS	9.9	599	99 80	148	56 60	2
PFPUnDS	10.3	649	99 80	132	56 76	2
PFPDoS	10.7	699	99 80	156	62 67	2
PFPTrDS	11.1	749	99 80	185	64 80	4
PFOA	10.0	498	169 78 48	150	36 36 110	3
9Cl-PF3ONS	9.0	531	351 83	150	28 32	3
11Cl-PF3OUdS	10.1	631	451 83	150	36 32	2
HFPO-DA	6.1	285	185 169 119	50	20 4 32	5
DONA	6.8	377	251 85	50	8 32	5
4:2 FTS	5.9	327	307 81 80	150	20 36 42	2
6:2 FTS	7.5	427	407 81 80	150	30 32 58	2
8:2 FTS	9.3	527	507 81 80	200	30 46 50	4

表 3. LC/MS/MS 取り込み設定 (前ページからの続き)

化合物	リテンション タイム (分)	プリカーサ イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	フラグメンタ エネルギー (V)	コリジョン エネルギー (V)	コリジョン セル加速電圧 (V)
10:2 FTS	10.4	627	607 81 80	208	34 42 54	4
¹³ C ₂ -4:2 FTS	5.87	329	309	150	24	2
¹³ C ₂ -6:2 FTS	7.55	429	409	150	28	2
¹³ C ₂ -8:2 FTS	9.29	529	509	200	28	4
¹³ C ₂ -PFDoA	10.35	615	570	90	12	2
¹³ C ₂ -PFTeDA	11.17	715	670	90	12	2
¹³ C ₃ -HFPO-DA	6.15	287	169	64	4	5
¹³ C ₃ -PFBS	5.39	302	80	130	44	2
¹³ C ₃ -PFHxS	6.76	402	80	156	48	2
¹³ C ₄ -PFBA	4.78	217	172	72	8	2
¹³ C ₄ -PFHpA	6.72	367	322	72	8	2
¹³ C ₅ -PFHxA	5.93	318	273	72	8	2
¹³ C ₅ -PFPeA	5.29	268	223	72	4	2
¹³ C ₆ -PFDA	9.3	519	474	72	8	2
¹³ C ₇ -PFUnDA	9.88	570	525	100	8	2
¹³ C ₈ -PFOS	7.6	421	376	72	8	2
¹³ C ₈ -PFOA	8.52	507	80	148	54	2
¹³ C ₈ -PFOSA	10	506	78	150	36	3
¹³ C ₉ -PFNA	8.51	472	427	72	8	2
TUDCA	6.8	498	124 80	146 280	53 80	4
TCDCa	8.6	498	124 80	114 280	65 80	4
TDCA	9.0	498	124 80	146 280	69 80	4

サンプル前処理

有機果物と有機野菜、オレンジジュース（果肉入り）は、食料品店で購入しました。果物と野菜を水で洗って細かく刻み、-20 °C で一晩以上冷凍しました。冷凍した果物/野菜片をミキサーで細かい粉末にしました。この細かい粉末は、サンプル前処理に直接使用するか、-20 °C で短期間保管しました。オレンジジュースは処理せずに直接サンプリングしました。

農産物とジュースのサンプル前処理ではいずれも、抽出用に 10 g のサンプルを使用しました。非標識 PFAS スパイク溶液と ISTD スパイク溶液を QC サンプルに適切に添加し、ISTD スパイク溶液のみをマトリックスブランクに添加しました。スパイク後に、サンプルを 10 ~ 15 秒間ボルテックスしました。これで、図 1 のサンプル前処理手順を進める準備ができました。

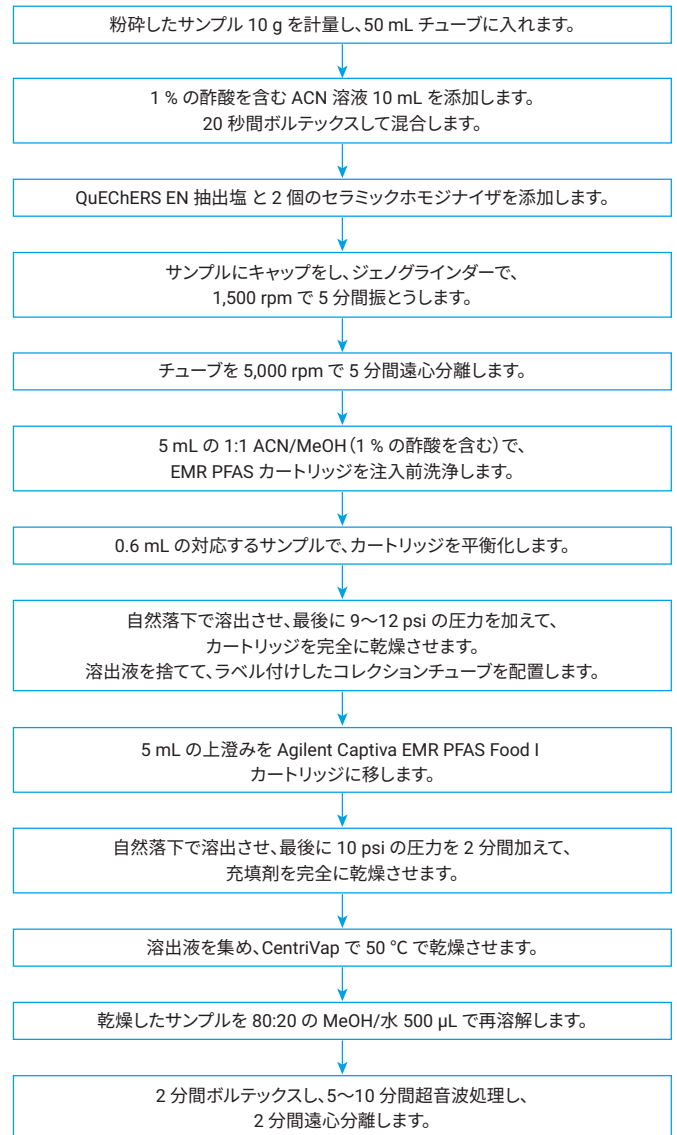


図 1. 果物、野菜、ジュースでの PFAS 分析のサンプル前処理手順

メソッドバリデーション

このメソッドを、キャリブレーション調査の評価、メソッドの LOQ の測定、回収率の真度と精度に基づいて検証しました。農産物中の PFOA、PFOS、PFNA、PFHxS のターゲット LOQ の要件はさまざまであり、LOQ 要件が非常に低いため¹、7 種類のプレスパイクした QC レベルサンプルを、レベルごとに 4～5 回レプリケートして前処理しました。さらに、マトリックスコントロールサンプル中のターゲットの定量のために、マトリックスブランクを 5～7 回繰り返し前処理しました。これは真度評価のために重要です。一部の PFAS では、マトリックスからの影響が不可避であるためです。離乳食の、プレスパイクした QC サンプルの PFAS スパイクレベルは、28 種類の PFAS で 0.001、0.002、0.004、0.01、0.02、0.1、0.2 µg/kg、PFBA の濃度は 10 倍、PFPeA の濃度は 5 倍です。すべてのプレスパイクした QC サンプルとマトリックスブランクの ISTD スパイクレベルは、0.1 µg/kg です。

結果と考察

EMR ミックスモードパススルークリーンアップ

Captiva EMR PFAS Food カートリッジでは、従来の QuEChERS 抽出後のミックスモードパススルークリーンアップにより、マトリックスを総体的に除去できます。パススルークリーンアップは、ターゲットを通過させながら、炭水化物、有機酸、色素、脂肪や脂質、その他の疎水性および親水性マトリックス共溶出物などのマトリックス干渉を除去するための、シンプルで効率的な手順です。Captiva EMR PFAS Food I カートリッジにはシンプルな化学式の少量の充填剤が含まれており、植物由来の生鮮食品や加工生鮮食品（果物、野菜、離乳食、ジュースなど）の分析に推奨されます。Captiva EMR PFAS Food II カートリッジにはより複雑な製法の多量の充填剤が含まれており、動物由来の生鮮食品や加工食品（牛乳、鶏卵、肉、魚、乳児用調製粉乳など）、植物由来のドライシード飼料と食品、油の分析に推奨されます。

果物と野菜は複雑でない食品マトリックスと見なされており、多くの果物と野菜の農業試験では、QuEChERS 抽出とその後の分散 SPE (dSPE) クリーンアップに基づくサンプル前処理が広く使用されてきました。dSPE クリーンアップは食品マトリックスの PFAS 分析で使用されてきましたが、多くの PFAS の回収ができませんでした。³ このことは当社が実施した、さまざまなクリーンアップメソッドを用いたブドウ抽出液での回収率における PFAS 回収率の研究で確認されています。図 2 に、さまざまなクリーンアップメソッドを用いたブドウ抽出液中の PFAS の回収率の比較を示します。EMR ミックスモードパススルークリーンアップでは、PFAS ターゲットの回収率範囲が 89～114% で RSD が 5% という優れた結果が出ました。それに対し dSPE クリーンアップでは多くの PFAS ターゲットで回収率がこれより低く、dSPE 1 クリーンアップを使用した場合は回収率範囲がより広い 47～105% で RSD が 20%、dSPE 2 クリーンアップを使用した場合は回収率範囲が 63～109% で RSD が 14% でした。

また EMR ミックスモードパススルークリーンアップでは、農産物マトリックスの効率的なマトリックス除去も見られました。植物由来の生鮮食品の場合、マトリックス色素が多いために効率的な色素除去が必要となる場合があります。図 3 に、Captiva EMR PFAS Food I カートリッジを用いた EMR ミックスモードパススルークリーンアップによる、農産物サンプルの高効率なマトリックス色素除去を示します。

EMR ミックスモードパススルークリーンアップの重要な特長として、PFAS ターゲット回収率とマトリックス除去の改善のほかに、サンプル量回収率の向上が挙げられます。サンプル量の回収率は通常、食品中の PFAS の分析には非常に重要です。必要な LOQ が低～中 ppt レベルであり、メソッドの感度向上には後濃縮ステップの使用が必要であるためです。従来の dSPE クリーンアップではサンプル量の約 50% が失われていましたが、EMR パススルークリーンアップではサンプル量の回収率が 90% を超えるため、後濃縮が容易で、一貫したサンプル再溶解が可能です。

全体的なメソッドバリデーション

代表的な 5 種類の果物と野菜、オレンジジュースに含まれる 30 種類の PFAS ターゲットを測定するための新しいメソッドを、AOAC SMRP ガイダンスに従ってバリデーションしました。メソッドは、PFAS ターゲットの LOQ 要件を満たす必要がありました。具体的には、主要な PFAS ターゲットで ≤ 0.01 µg/kg、PFBA と PFPeA で ≤ 1 µg/kg、その他の PFAS ターゲットで ≤ 0.1 µg/kg です。

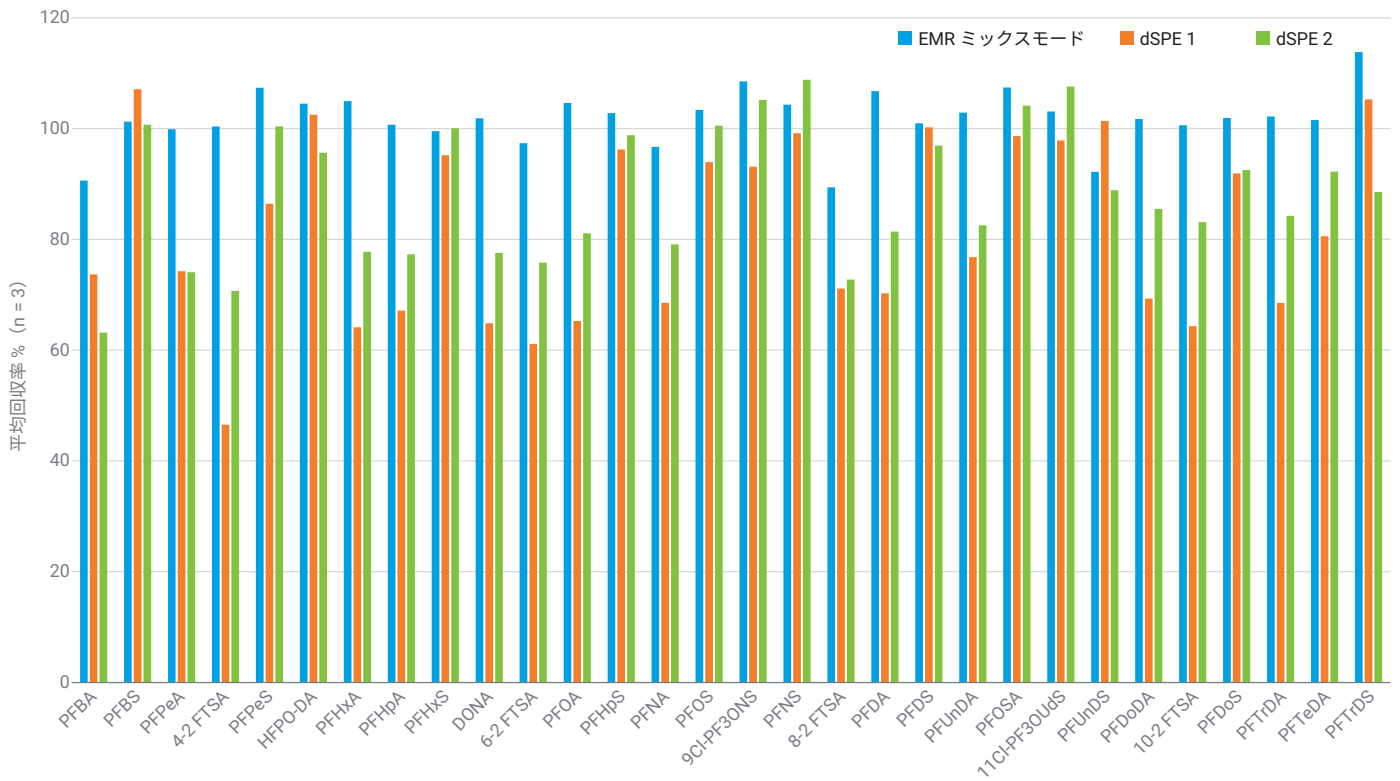
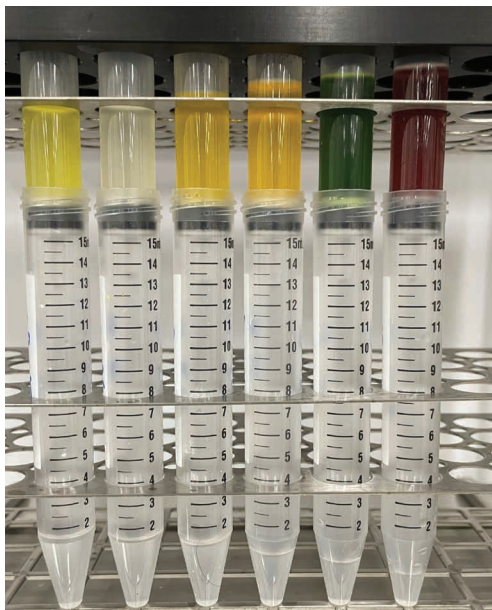


図 2. ブドウ抽出液での、Agilent Captiva EMR PFAS Food I カートリッジによるミックスモードパススルークリーニングまたは従来の dSPE クリーニングを用いたサンプルクリーニング後の PFAS 回収率

A サンプル未処理抽出液のパススルークリーニングアップ



B サンプル抽出液の外観。EMR ミックスモードパススルークリーニングアップあり (左) と EMR ミックスモードパススルークリーニングアップなし (右)

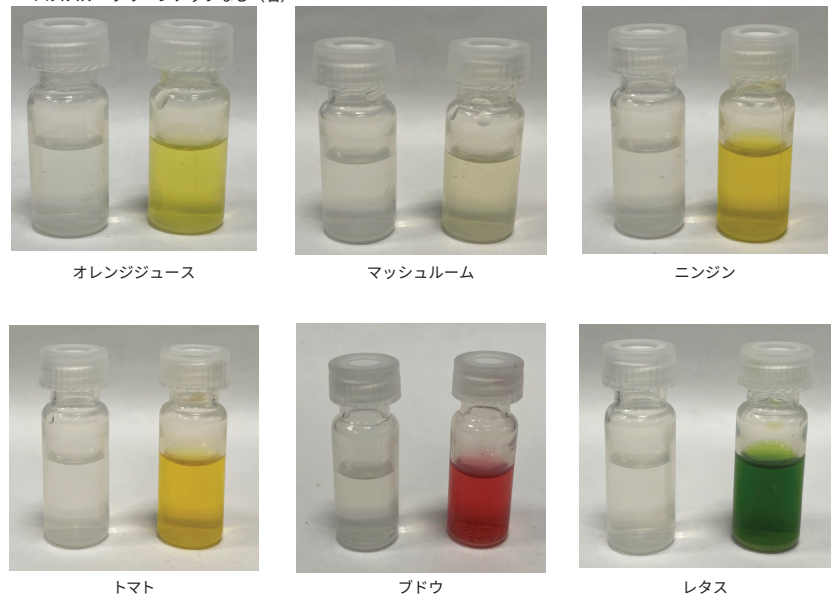


図 3. (A) Captiva EMR PFAS Food I カートリッジでの果物、野菜、ジュースの抽出液のパススルークリーニングアップ (B) 6 種類のマトリックスでのサンプル抽出液の外観：EMR ミックスモードパススルークリーニングアップあり (左) と EMR ミックスモードパススルークリーニングアップなし (右)

メソッドの LOQ とバリデーションレベル

本研究で評価した食品マトリックス全体で、マトリックスブランクで正電荷が検出された PFAS ターゲットはほとんどありませんでした。ターゲット回収率のメソッドバリデーションには、マトリックスバックグラウンド補正を使用しました。マトリックスブランクは 5～7 回繰り返し前処理しました。メソッドのレポート対象最小 LOQ は、次の式により、マトリックスブランク検出に基づいて算出しました。

$$LOQ_{\text{lowest}} = 10 \times SD_{\text{MBs}}$$

各項の説明：

- LOQ_{lowest} は、メソッドのレポート対象定量下限です。
- SD_{MBs} は、マトリックスブランクの 5～7 回のレプリケートから検出されたターゲットの標準偏差です。

次に、バリデーション済み QC の最小スパイクレベル（レポート対象の最小 LOQ 以上）に基づいて、メソッドの LOQ を決定しました。表 4 に、6 回の繰り返し分析における各ターゲットの、レポート対象最小算出 LOQ (LOQ_{cal}) とバリデーション済みメソッドの LOQ (LOQ_{val}) を示します。

主要な PFAS ターゲットでは、6 種類のマトリックスでバリデーション済みメソッドの LOQ が必要な LOQ 以下となりました（マッシュルームの PFNA とニンジン PFOS は除く）。バリデーション済み LOQ が、マッシュルームの PFNA (0.1 µg/kg) とニンジン PFOS (0.02 µg/kg) で高いのは、これら 2 種類の食品マトリックスで大きな正電荷が発生したためです。主要な PFAS ターゲットでは、0.01 µg/kg 未満の LOQ も調査しました。全体として、試験対象の農産物マトリックス中の主要な PFAS ターゲットの 50 % は、サンプル中 0.004 µg/kg 以下の LOQ でバリデーションしました。主要な PFAS ターゲットの残り 50 % が 0.01 µg/kg レベル未満の LOQ でバリデーションされない主な理由は、サンプルマトリックスブランクでの PFAS ターゲットの正電荷の発生です。LC/MS/MS 機器の感度も少し影響しました。Agilent 6495D LC/TQ⁵ による離乳食中の主要な PFAS ターゲットのバリデーション済みメソッドの LOQ と比べると、Agilent 6470B LC/TQ によるバリデーションでは、農産物中の主要な PFAS ターゲットのうち、LOQ が 0.01 µg/kg 未満であるものが少なくなっています（マトリックスバックグラウンドが LOQ 測定に影響しなかった場合）。これにより、6495D LC/TQ の高い機器感度が、より低い LOQ レベルでのメソッドバリデーションをサポートできることがわかります。その他の PFAS ターゲットはすべて、必要な LOQ を満たしています。ただし、ニンジンでの 4:2 FTS と 6:2 FTS は例外で、ニンジンから発生する大きな正電荷により、メソッドの LOQ を上げる必要がありました。図 4 に、トマト中の主要ターゲットのマトリックスブランクとバリデーション済みメソッドの LOQ を示します。これらはすべて 0.01 µg/kg 未満です。

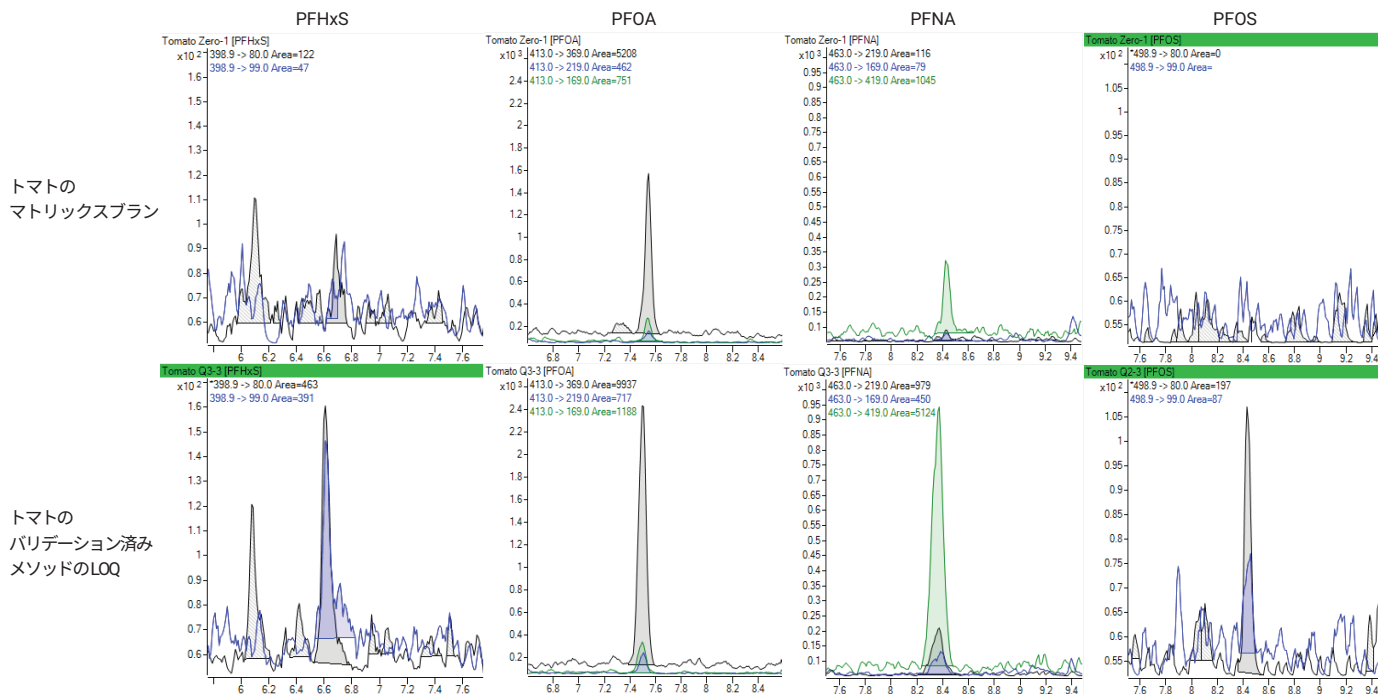


図 4. トマトのマトリックスブランク (上) とバリデーション済み LOQ (下) の、主要な PFAS ターゲット (PFHxS (0.004 µg/kg)、PFOA (0.004 µg/kg)、PFNA (0.004 µg/kg)、PFOS (0.002 µg/kg)) のクロマトグラム

表 4. 新鮮な農産物およびジュース中の 30 種類のターゲットの、メソッドのレポート対象最小 LOQ (LOQ_{cal}) とバリデーション済み LOQ (LOQ_{val})

ターゲット	新鮮な農産物とジュースでのメソッド LOQ (µg/kg)											
	レタス		マッシュルーム		ニンジン		ブドウ		オレンジジュース		トマト	
	LOQ _{cal}	LOQ _{val}	LOQ _{cal}	LOQ _{val}	LOQ _{cal}	LOQ _{val}	LOQ _{cal}	LOQ _{val}	LOQ _{cal}	LOQ _{val}	LOQ _{cal}	LOQ _{val}
PFBA	0.142	0.2	0.143	0.2	0.138	0.2	NA	0.1	NA	0.2	0.273	1
PFPeA	NA	0.01	0.003	0.01	0.007	0.01	0.005	0.01	0.005	0.01	0.001	0.01
PFBS	0.001	0.01	0.004	0.01	0.008	0.01	0.006	0.01	0.002	0.01	0.005	0.01
4:2 FTS	0.038	0.1	NA	0.01	0.195	0.2	0.017	0.1	0.003	0.01	0.042	0.1
PFPeS	NA	0.01	0.004	0.01	NA	0.01	0.009	0.01	0.012	0.02	NA	0.01
PFHxA	NA	0.02	0.004	0.01	NA	0.02	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01
HFPO-DA	NA	0.1	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01
PFHpA	0.001	0.01	0.003	0.01	NA	0.01	0.004	0.01	0.003	0.01	0.002	0.01
PFHxS*	0.002	0.01	0.002	0.004	NA	0.01	0.003	0.01	NA	0.01	0.003	0.004
DONA	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.1	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01
6:2 FTS	0.099	0.1	0.01	0.01	0.104	0.2	NA	0.01	0.013	0.02	NA	0.01
PFOA*	0.003	0.01	0.01	0.01	0.009	0.01	0.002	0.002	0.004	0.01	0.002	0.004
PFHpS	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01
PFNA*	0.002	0.002	0.018	0.1	0.004	0.004	0.001	0.001	0.003	0.004	0.003	0.004
PFOS*	0.001	0.002	NA	0.002	0.015	0.02	0.001	0.002	0.001	0.004	NA	0.002
9CI-PF3ONS	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	0.001	0.01	NA	0.01	NA	0.01
8:2 FTS	NA	0.01	NA	0.01	0.002	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01
PFNS	0.001	0.01	NA	0.01	NA	0.01	0.001	0.01	NA	0.01	0.003	0.01
PFDA	NA	0.01	0.011	0.1	0.001	0.01	0.001	0.01	0.002	0.01	NA	0.01
PFDS	0.01	0.01	0.004	0.01	0.003	0.01	NA	0.01	0.000	0.01	NA	0.01
PFUnDA	0.002	0.01	0.012	0.1	0.003	0.01	0.001	0.01	0.002	0.01	NA	0.01
PFOSA	NA	0.01	0.1	0.01	0.003	0.02	0.002	0.01	NA	0.02	0.003	0.01
11CI-PF3OUdS	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	0.008	0.02	NA	0.01
PFUnDS	0.004	0.01	NA	0.01	NA	0.02	0.001	0.01	NA	0.01	NA	0.01
PFDoDA	0.001	0.01	0.006	0.01	0.004	0.01	0.001	0.01	0.001	0.01	0.003	0.01
10:2 FTS	0.001	0.01	NA	0.01	0.001	0.01	0.001	0.01	NA	0.01	NA	0.01
PFDoS	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.02	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01
PFTTrDA	NA	0.01	0.004	0.01	0.001	0.01	NA	0.01	0.001	0.01	0.001	0.01
PFTTrDS	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.01	0.002	0.01	NA	0.01
PFTTeDA	0.001	0.01	0.003	0.01	0.002	0.01	0.001	0.01	0.001	0.01	0.001	0.01

* 主要な PFAS ターゲット

赤の結果は、メソッド LOQ_{val} が AOAC SMPR 要件より高かったものです。

メソッドキャリブレーション

18 種類の PFAS の同位体標識 ISTD を使用すると、同じ標準検量線を別の食品マトリックスサンプルの PFAS 定量に使用できます。このため、食品マトリックスごとのマトリックス適合検量線が不要です。これでサンプル試験の生産性を大幅に上げ、時間とコストを節約し、サンプル分析の一貫性を改善できます。

検量線の範囲は、食品マトリックスで必要な LOQ、サンプル前処理で導入された濃度係数、機器のメソッド感度に基づいて決定しました。農産物で必要な LOQ レベルは低いため、10 ~ 5,000 ng/L のキャリブレーション設定範囲を使用しました。この結果、30 種類の PFAS ターゲットすべてで、500 倍の検量線ダイナミックレンジと相関係数 $R^2 > 0.99$ が確認されました。

メソッドの真度と精度

メソッドの回収率と再現性をバリデーションしました。農産物の許容基準は、対応する同位体 ISTD ありの PFAS ターゲットでは回収率が 65 ~ 135 %、RSD が ≤ 25 % です。対応する同位体 ISTD なしの PFAS ターゲットでは回収率が 40 ~ 140 %、RSD が ≤ 30 % です。²メソッドバリデーションでは、3つのレベル (LOQ、中、高) のプレスバイクした QC をレポート対象としました。ただし、いくつかの例外があります。トマト中の PFBA と 4:2 FTS、レタス中の 4:2 FTS、PFHxA、6:2 FTS、PFOSA、ニンジン中の 4:2 FTS、DONA、6:2 FTS、ブドウ中の 4:2 FTS です。これらの例外では、サンプルマトリックスコントロールにおいて発生する正電荷が大きいため、1 ~ 2つのレベルのみがレポート対象となりました。

図 5 に、6 種類の試験対象農産物およびジュースのマトリックスでの、PFAS 分析のメソッドバリデーションの回収率と再現性 (RSD) のまとめを示します。全体的に、食品マトリックス中の PFAS ターゲットでのメソッドの回収率と再現性の結果は許容基準を満たし、許容可能でした。対応する同位体標識 ISTD ありのターゲットは、対応する同位体標識 ISTD なしのターゲットより、優れた定量結果を示しました。また外れ値はすべて、対応する同位体標識 ISTD なしのターゲットからのもので (特に 10:2 FTS の場合)、ブドウ、レタス、マッシュルームで許容不可能な回収率の値が非常に高くなりました。これはマトリックス拡張効果によるものです。

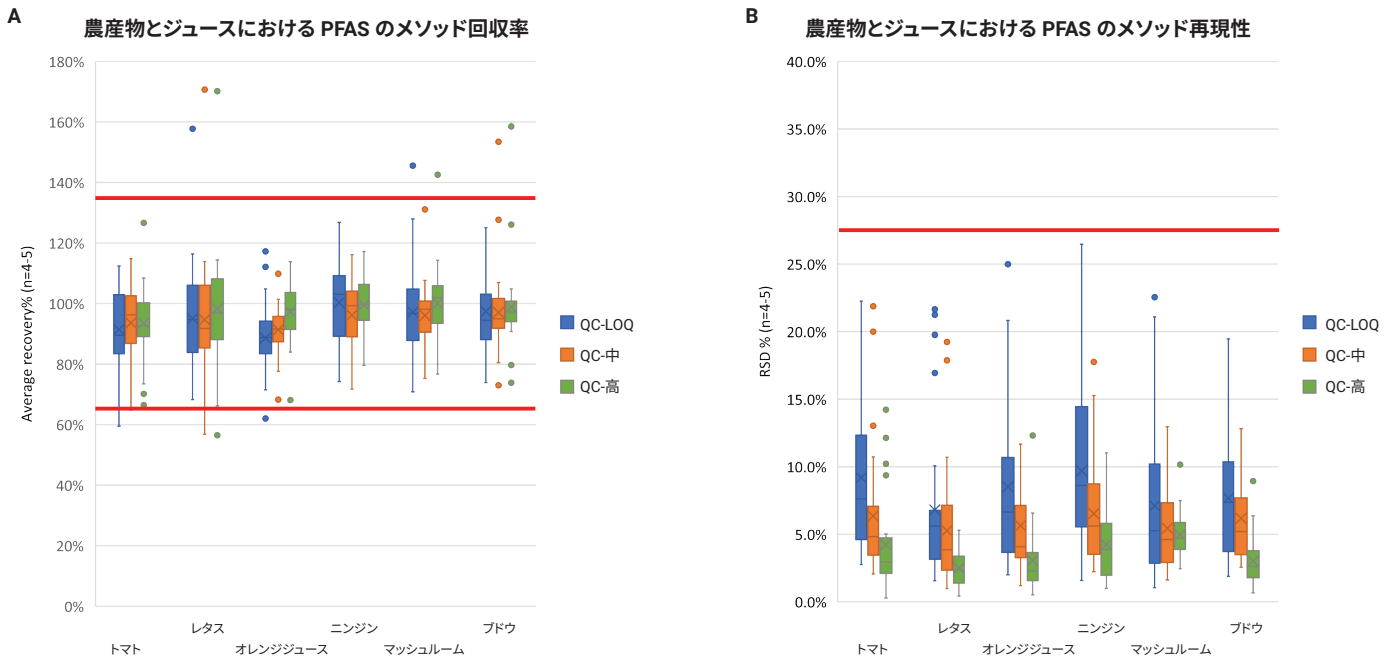


図 5. 農産物およびジュース中の 30 種類の PFAS の、メソッドの回収率 (A) と再現性 (B) の結果のまとめ

結論

6 種類の農産物およびジュースマトリックス中の 30 種類の PFAS ターゲット用に、QuEChERS 抽出の後に Agilent Captiva EMR PFAS Food I カートリッジによる EMR ミックスモードパススルークリーンアップと LC/MS/MS 検出を使用する、シンプルで迅速かつ信頼性の高いメソッドを開発してバリデーションしました。この新しいクリーンアップメソッドでは、従来の dSPE と比べて、マトリックス除去、PFAS 回収率、サンプル量回収率が大幅に改善されました。また、シンプルなサンプルクリーンアップメソッドにより、時間と手間を節約できるので、ラボ全体の生産性が向上します。許容基準を用いてメソッド全体のバリデーションを実行し、メソッド性能が AOAC SMPR 2023.003 に記載されている要件を満たすことを示しました。

参考文献

1. EUR-Lex (2023) Consolidated Text: Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No. 1881/2006.
2. AOAC (2023) Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Produce, Beverages, Dairy Products, Eggs, Seafood, Meat Products, and Feed (AOAC SMPR 2023.003)
3. Genualdi S.; Young W.; Peprah E.; *et al.* Analyte and Matrix Method Extension of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Food and Feed. *Anal. and Bioanal. Chem.* **2024**, 416, 627–633. doi: 10.1007/s00216-023-04833-1.
4. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. Determination of 30 Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Infant Formula, Milk and Eggs, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-7366EN, **2024**.
5. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E.; Determination of 30 Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Baby Food, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-7367EN, **2024**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE95122811

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, June 10, 2024

5994-7369JAJP